

Aus dem Max-Planck-Institut für Hirnforschung Köln-Lindenthal, Abteilung für Tumorforschung und experimentelle Pathologie (Leitung: Prof. Dr. W. TÖNNIS) und der Abteilung für allgemeine Neurologie (Leitung: Prof. Dr. K. J. ZÜLCH) und aus dem Institut für Tierpathologie der Universität München (Leitung: Prof. Dr. H. SEDLMEIER)

Untersuchungen
über die experimentelle Erzeugung von Gehirntumoren
mit Methyleholanthren an Mäusen und Ratten

unter besonderer Berücksichtigung der Bedeutung der Lokalisation
des Carcinogens für die Art der entstehenden Geschwülste

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Bruno Schiefer
Tierarzt aus Köln



München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. K. Zipf

Referent: Prof. Dr. H. Sedlmeier

Tag der Promotion: 26. 2. 1958

Sonderabdruck aus

Zentralblatt für Neurochirurgie. Band 18, Heft 5/6 (1958)

Unter Mitarbeit zahlreicher Fachgelehrter herausgegeben von
W. Felix-Berlin, W. Tönnis-Köln, G. Merrem-Leipzig,
K. J. Zülch-Köln und H. Köbcke-München

Satz und Druck: (IV/26/14) Fachbuchdruck Naumburg (Saale)

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung	360
B. Eigene Versuche und Schrifttumsvergleich	364
1. Karzinogen, Versuchstiere, Pelletherstellung	366
2. Operationstechnik	366
3. Postmortale Behandlung	366
C. Auswertung und Klässifikation	366
1. Neuroepitheliale Gewächse	368
2. Mesodermale Gewächse	370
3. Epitheliale Gewächse	372
D. Ergebnisse	372
E. Zusammenfassung	374
F. Schrifttumsverzeichnis	375
G. Lebenslauf	376

Einleitung

Unsere heutigen Vorstellungen über die Entstehung von Geschwülsten beim Menschen sind weitgehend geprägt durch die Möglichkeit, mit karzinogenen Stoffen bei Tieren experimentell Geschwülste zu erzeugen. Auch im Hirngewebe konnten derartige karzinogenetische Experimentaltumoren in den letzten 20 Jahren von zahlreichen Autoren erzeugt werden. Allerdings entstanden bei der Klassifikation solcher Geschwülste offensichtlich Schwierigkeiten, was die Unterschiede in den Ergebnissen erklärt, die sehr oft in den entsprechenden Arbeiten zu finden waren. Darauf hat Zülch (30 u. 31) mehrfach hingewiesen.

Unter den bisher vorliegenden Ergebnissen sind besonders die von Zimmermann und Arnold (27—29) interessant, wonach es nämlich durch verschiedene Lagerung des karzinogenen Stoffes in den einzelnen Teilen des Hirnes möglich sein sollte, auch verschiedene Geschwülste zu erzeugen. So sollten Ependymome entstehen, falls das Karzinogen an die Ventrikelwand gebracht wurde; in der weißen Substanz sollten Glioblastome und seltener Astrozytome, im Okzipitallappen gewöhnlich ein Oligodendrogliom, im Balken das polare Spongioblastom, im Kleinhirn das Medulloblastom entstehen. Damit sollten also unter den »experimentellen Tumoren« auch

die meisten der Spontantumoren (Gliome) beim Menschen vertreten sein. Diese These leuchtete zwar theoretisch ein, doch mußte sie experimentell überprüft werden.

In dieser These sind nämlich die zwei Hauptanschauungen über die Entstehung der Geschwülste bis zu einem Grade miteinander vereint. Ursprünglich war vermutet worden, daß ein örtlicher Faktor des Gewebes eine Rolle spielte, von dem Cohnheim angenommen hatte, daß er auf eine »Unregelmäßigkeit der embryonalen Anlage« zurückgehe. Andererseits hatte Virchow immer die Bedeutung äußerer oder innerer chronischer

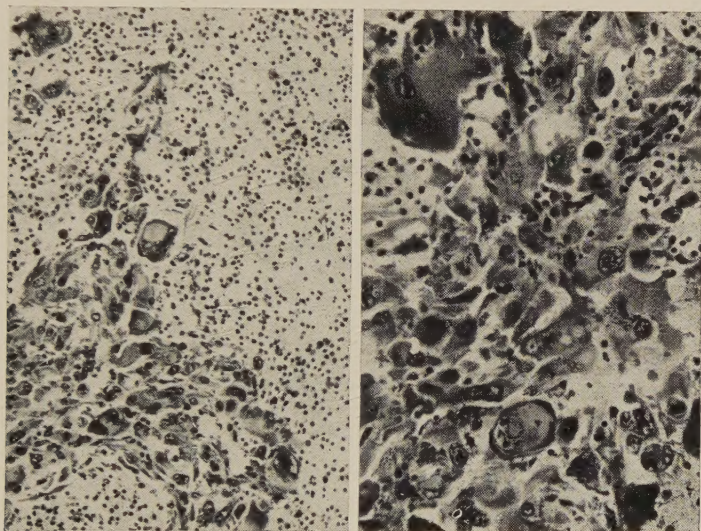


Abb. 1

Abb. 2

Abb. 1 u. 2. In dem kleinzelligen Tumor aus lymphozytenähnlichen Zellen ohne besondere Architektur hat sich um die Kapillaren ein riesenzelliger Verband gebildet. Die Zellen haben etwa die 30—40fache Größe der übrigen. Diese dysmorphen Elemente zeigen Vakuolen, Einschlüsse und erhebliche Granulierung. Gelegentlich sieht es so aus, als ob Leukozyten phagozytiert wurden

Abb. 1. Kresylviolett-Färbung. Vergr. 93 ×

Abb. 2. Kresylviolett-Färbung. Vergr. 187 ×
Maus XII/325 (vgl. Abb. 15a)

Reize in den Vordergrund gestellt. Als es Anfang dieses Jahrhunderts gelang, durch chronische Teerpinselung die ersten Geschwülste experimentell zu erzeugen, schien die Ansicht Virchows sich immer mehr zu der allein gültigen zu entwickeln. Während unter dem Eindruck der immer höher gesteigerten Wirksamkeit moderner Karzinogene die Virchow'sche Theorie auch immer mehr in den Vordergrund unserer Anschauung tritt, lebt in der Allgemeinpathologie die Cohnheim'sche Theorie nur für die Erklärung der sogenannten »dysgenetischen« Geschwülste fort. Allerdings hat Ostertag an der These der dysontogenetischen Entstehung der Geschwülste auf Grund seiner Beobachtungen an den Hirngeschwülsten festgehalten und

nachdem diese von Ostertag (12—14) und Philipp Schwartz (21) und Zülch herausgestellte örtliche Prädilektion des Sitzes der Hirngeschwülste immer klarer zutage trat, hat Zülch den »örtlichen Faktor« als eine der obligaten Voraussetzungen bei der Entstehung der »spontanen« Hirngeschwülste in den Vordergrund geschoben.

Zugegebenermaßen spielt bei der experimentellen Erzeugung der Geschwülste der örtliche Faktor nur eine untergeordnete Rolle, während die von außen wirkenden Faktoren — im Sinne einer »äußeren« oder »inneren« Reizung — hier die ausschlaggebende Rolle spielen. Einige der »äußeren« Karzinogene wurden erwähnt. Unter den »inneren« sind z. B. die

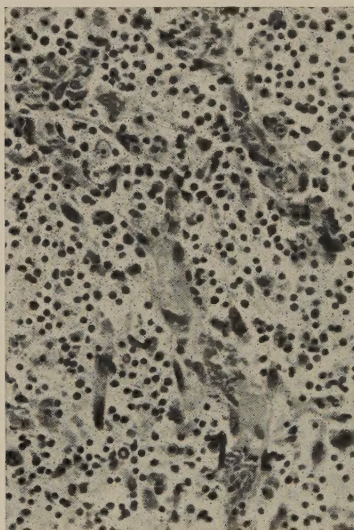


Abb. 3

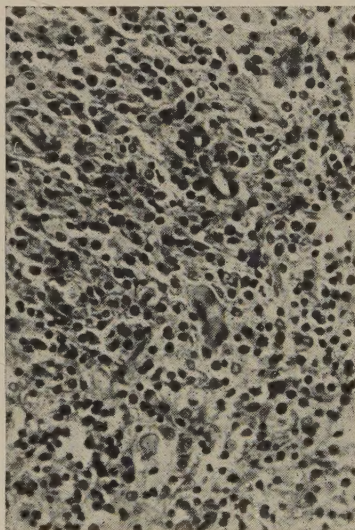


Abb. 4

Abb. 3. Neben den kleinzelligen Gebieten finden sich hier auch die ersten Bildungen dysmorpher großzelliger Elemente, die sich offensichtlich von der Kapillarwand ablösen
HE-Färbung. Vergr. 187 ×. Maus VII/339 (vgl. Abb. 15c)

Abb. 4. Dieser aus ventrikelnahen Zonen stammende Tumor besteht aus isomorphen Zellen, durchmischt mit einigen Kapillaren. Er ähnelt bis zu einem gewissen Grade den Ependyomen des Foramen Monroi im Seitenventrikel
Kresylviolett-färbung. Vergr. 187 ×. Maus VIII/335 (vgl. Abb. 15b)

als »lebende Agentien« wirksamen Parasiten, Bakterien und Viren zu nennen (Sarkom der Leber bei *Cysticercus fasciolaris* bzw. z. B. das Rous'sche Hühnersarkom als typischer Virustumor).

Unter den physikalischen Noxen sind es hauptsächlich Strahlen aller Art, von den ultravioletten Strahlen bis hin zu den Röntgen- und Radium-Strahlen und den radioaktiven Isotopen.

Die chemischen Karzinogene

In den letzten Jahrzehnten sind aber auch die chemischen Faktoren mit karzinogener Wirkung genau studiert worden und man hat die Arsen-Chromat-Staub-Eisenoxyd-Azurfarbstoffe u. a. und die oben bereits

erwähnten Teerabkömmlinge als krebserzeugend nachweisen können. Das Schrifttum zu diesem Kapitel ist heute fast unübersehbar, und die Liste der Federal Security Agency (1951, Hartwell) (7) enthält 1329 chemische Stoffe, die Krebs erzeugen können, 322 davon erzeugten bei experimentellen Versuchen sogar maligne Tumoren. Seit 1936 Oberling-Guerin (11) Geschwülste erstmalig auch am Zentralnervensystem zu erzeugen versuchten, hat sich auf dem Gebiete der experimentellen Karzinogenese eine ungeheure Entwicklung abgespielt.

Wo die karzinogenetischen Stoffe angreifen, ist noch nicht gesichert, man vermutet, an den Fermentsystemen der Zelle (Butenandt-Dannen-

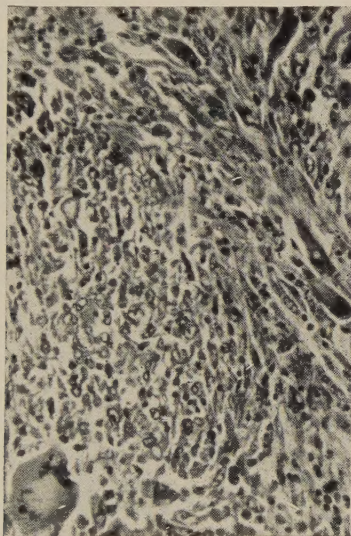


Abb. 5

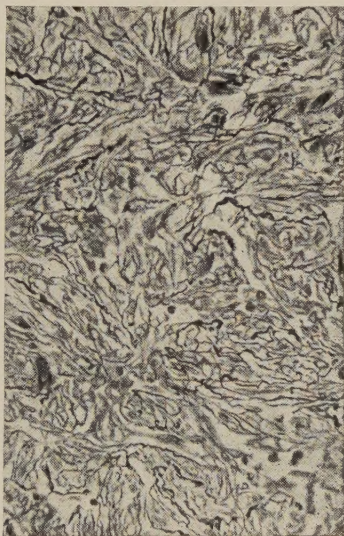


Abb. 6

Abb. 5 u. 6. Vorwiegend spindelförmiger Tumor mit hyperchromatischen Riesenzellen, die z. T. mehrkernig sind. Der Tumor bildet ein reichliches Gitterfasernetz.

Abb. 5. HE-Färbung. Vergr. 187 ×

Abb. 6. Gomori-Versilberung. Vergr. 187 ×

Maus XII/306 (vgl. Abb. 15 d u. 16)

berg (2), Felix (6), Seeger (21)). Die Allgemeinpathologen weisen aber auch auf die Bedeutung des Ausgangsgewebes für die entstehende Geschwulst hin, und Domagk (3) sagt z. B.: »Es kommt allein auf den Mutterboden an, welche Art von Geschwulst sich entwickelt. So entsteht ein Plattenepithelkarzinom bei Einwirkung der Schädigung auf die Haut, ein Adeno-Karzinom bei Einwirkung auf die Drüsenschleimhaut, ein Sarkom bei Injektion einer karzinogenen Substanz in die Subkutis oder in den Muskel. Dabei ist es gleichgültig, welche chemische Konstitution die krebserregende Substanz besitzt.«

Natürlich ist die Erzeugung einer experimentellen Geschwulst, z. B. wie im vorliegenden Fall mit einem chemischen Stoff, ein grundverschie-

dener Vorgang von der natürlichen — spontanen — Entstehung einer Geschwulst. Das gilt besonders vom Hirn in seiner geschützten Lage, bei dem außerhalb des Experimentes weder traumatische, chemische oder chronisch-irritative (z. B. entzündliche) Reize am Gewebe angreifen können, worauf Zülch (30 u. 31) immer wieder verwiesen hat. Immerhin bleibt die experimentelle Geschwulsterzeugung eine Möglichkeit wenigstens annähernd jene Vorgänge nachzuahmen, wie sie sich bei der Entartung einer normalen Zelle zur Tumorzelle abspielen.

Hinsichtlich der historischen Entwicklung der Arbeiten zur Erzeugung von experimentellen Hirngeschwülsten sei auf die eigene ausführliche Doktorarbeit und auf das ausführliche Übersichtsreferat von Sacchi (19) verwiesen. Auch enthält die Originaldoktorarbeit Tabellen über die von verschiedenen Autoren mit jedem Karzinogen hervorgerufenen Tumoren.

Eigene Versuche

Bei unseren Versuchen haben wir die von Shear-Lorenz (24) und Ilfeld (8) angewandte Technik der »Pellets« übernommen, d. h. die Einführung kleiner zylindrischer Stäbchen aus dem Karzinogen, die man leicht in eine Wunde implantieren kann.

Wir haben aus Zylindern von ca. 4 cm Länge und 1 mm Dicke, die in Kapillaren gegossen waren, dünne Scheibchen geschnitten, deren Länge etwa 1 mm betrug. Die Pellets wurden in 70 % igem Alkohol sterilisiert, die Arbeiten mit der nötigen Vorsicht durchgeführt. Als kanzerogenen Kohlenwasserstoff haben wir das 20-Methylcholanthren (Farbenfabriken Bayer, Leverkusen) gewählt, da mit diesem Stoff nach dem bisherigen Schrifttum die größten Aussichten auf ein erfolgreiches Arbeiten gegeben waren. Es wurden in der vorliegenden Arbeit Mäuse und Ratten der verschiedensten Zucht bezogen, um ein genetisch völlig verschiedenes Ausgangsmaterial zu haben. Eine besondere Disposition zu Geschwülsten ließ sich daher nicht erwarten. Die reinen Stämme, die wir verwandten, wurden vom Zootechnischen Institut König, Rotenburg/Hannover, gezüchtet. Der Vorteil reiner Stämme lag in der größeren Resistenz dieser Tiere gegenüber operativen Eingriffen.

Es wurden 267 Mäuse und 12 Ratten, also insgesamt 279 Tiere, verwandt. Die größere Zahl postoperativer Ausfälle in unseren ersten Serien erklärt sich wahrscheinlich aus der späteren Verbesserung der Technik, zum Teil aber auch aus der Verwendung besserer Tierstämme.

Die Wahl von Ratte und Maus erklärt sich aus den Erfahrungen des Schrifttums, nach dem z. B. das Huhn vollkommen resistent gegen chemische Karzinogene ist (Russell (18)), während der Hund zwar eine sehr große Zahl »angegangener« Tumoren zeigt (Mulligan (9 u. 10)), aber für eine Serienuntersuchung ja wegen der Kosten von Unterbringung und Haltung nicht brauchbar ist. Nach den Ergebnissen des Schrifttums haben die einzelnen Stämme eine sehr verschieden starke Veranlagung zur Bildung von »spontanen« und »experimentellen« Geschwülsten. Der Stamm C 3-H erwies sich bei allen Versuchen als derjenige, bei dem Tumoren am leichtesten zu erzeugen waren. Man kann mit Strong (25) (1949) sagen, »C 3-H-Mäuse besitzen eine sehr hohe Empfänglichkeit für die Entstehung von Tumoren, die durch chemische Mittel erzeugt werden, ein ganz unerwartetes Ergebnis«.

Eine Frage, die noch zur Debatte steht, ist die Konzentration des angewandten Karzinogens (Shear-Leiter (23), Peers (16), Russel (17), Eker (4)). Hier kann man zusammenfassend sagen, daß anscheinend mit steigender Dosis sich eine stärkere Atypie der Geschwülste ergibt, ein Kleinerwerden der Latenzperiode und ein Ansteigen der Häufigkeit der

Metastasierung. Die notwendige Einwirkungszeit ist eng damit verbunden. Ob auch das Alter der Versuchstiere eine Rolle spielt, ist noch nicht geklärt. Hier finden sich entgegengesetzte Angaben im Schrifttum (Saxen (20), Brunschwig-Tochetter (1)). Die Oberflächengröße des Pellet soll nach Shear-Lorenz (24) die ausschlaggebende Rolle spielen, nicht aber die absolute Menge. Wir haben daher auch Versuche gemacht mit kleinen Schwämmchen, die in Methylcholanthren getaucht waren. Auf die Ergebnisse wird unten noch eingegangen.

Wenn ein Pellet keine Reaktion oder nur eine Fremdkörperriesenzellreaktion hervorruft, ist es meist keine Folge einer ungenügenden chemischen



Abb. 7

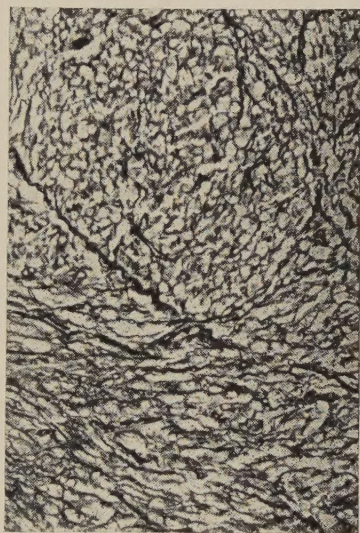


Abb. 8

Abb. 7 u. 8. Vorwiegend spindenzelliger Tumor aus breiten Gewebsbändern, die kapilläre oder sinusoide Gefäße umgeben. Es besteht eine Ähnlichkeit mit dem angiomatösen Meningeom. Der Tumor bildet ein dichtes Gitterfasernetz

Abb. 7. HE-Färbung. Vergr. 187 ×

Abb. 8. Tibor-Pap-Kernechtrot. Vergr. 187 ×

Maus XII/324 (vgl. Abb. 14 u. 17)

Wirkung. Derartige Pellets können bei anderen Tieren im Versuch noch eine echte Geschwulst erzeugen (Zimmermann-Arnold (28)). Ob das Geschlecht des Versuchstieres eine Rolle spielt, ist noch nicht sicher geklärt. Nach Greene spielt es eine Rolle bei der Transplantation von Tumoren: männliche Versuchstiere nehmen maligne Geschwülste leichter an als weibliche (zit. Zülch). Das deckt sich mit den Auffassungen von Zülch über die Zusammenhänge zwischen der Bildung maligner Tumoren und dem Geschlecht des Tumorträgers. Im Schrifttum finden sich weiter Angaben über die Wirkung einer verschiedenen Zusammensetzung des Futters. Hier soll z. B. Zuführung von Fett häufiger Tumoren entstehen lassen, der Zusatz von Riboflavin, Nikotinsäure und Kasein die Krebshäufigkeit (bei

Versuch mit Leberkrebserzeugung) herabsetzen. Wie sich aus diesen Daten ergibt, bestehen über diese biologischen Faktoren jedoch noch Unklarheiten, die eine weitere Bearbeitung der Fragen notwendig machen.

Operationstechnik:

Es wurde bei den Tieren der Schädelknochen freigelegt und mit einem Zahnbohrer ein Loch gebohrt (ca. 2 mm Durchmesser), wobei gewöhnlich die Dura eröffnet wurde. Das Pellet wurde dann stumpf durch die Pia hindurch ins Hirn hineingedrückt. Es sollte meist etwas seitlich von der Operationsöffnung liegen, um ein späteres Austreten bei der Massenzunahme durch Ödematisierung des Hirns zu vermeiden. Entsprechend der Fragestellung unserer Arbeit wurde das Pellet in die verschiedensten Richtungen geschoben, teils nach lateral, teils nach nasal, teils mehr zur Basis des Hirns und teils sehr vorsichtig zum Kleinhirn, da hierbei viele Todesfälle durch plötzlichen Atemstillstand vorkamen. In den letzten beiden Serien wurde das Implantat möglichst unmittelbar unter den Knochen gesetzt. Die Tiere erholten sich meist sehr rasch und zeigten nur selten neurologische Symptome.

In den ersten Serien hatten wir allerdings eine sehr hohe Mortalität, die sich erst senken ließ, als wir Tiere reiner Abstammung (s. oben) verwandten, welche eine größere Resistenz gegenüber der Hirnverletzung bewiesen. Um eine toxische Wirkung des 20-Methylcholanthren auszuschließen, implantierten wir Schwämmchen, wie sie zur Blutstillung bei Hirnoperationen verwandt werden, die teils in Methylcholanthren getaucht waren, teils ohne Karzinogen blieben. Die Mortalität war in beiden Gruppen gleich groß. Eine toxische Wirkung, wie sie von Esmarch (5) vermutet wird, war damit auszuschließen, eine häufigere Tumorbildung durch die größere Oberfläche wurde nicht beobachtet. Bei den letzten Serien war die postoperative Mortalität übrigens nur noch 2 %. In der weiteren Überlebensperiode nach der Operation zeigten die Tiere keine großen Abweichungen von der Norm. Nur gelegentlich ließen sich generalisierte Anfälle, Benommenheit oder Paresen feststellen. Eine Ausnahme machten selbstverständlich die mit einem großen extrakraniellen Tumor behafteten Tiere. Ihre Bewegungsmöglichkeit wurde mit zunehmender Größe des Tumors geringer und hörte bei der späteren Unmöglichkeit, den Kopf zu heben, ganz auf.

Technische Verarbeitung der Hirne mit Tumoren: Die Stelle der Implantation war durch die Anwesenheit des Pellets leicht zu finden. Wir müssen hier allerdings eine Schwierigkeit erwähnen, die alle anderen Autoren bisher unerwähnt gelassen haben. Wegen der hohen kanzerogenen Wirkung hielten wir es für notwendig, das Pellet für die weitere histologische Bearbeitung aus dem Hirn zu entfernen. Dabei mußten natürlich gerade die Zellen und Zellverbände entfernt werden, die im engsten Kontakt mit diesem stehen und ihm anhaften. Es sind also gerade die Zellen, die als erste den Reiz des Karzinogens erhielten. Das mag zwar für die Beurteilung der Wirkung von Karzinogenen auf eine Zelle (im Sinne der Umwandlung in die Tumorzelle) ungünstig sein, doch ist dieser technische Ausfall vorläufig unvermeidbar.

Dann wurde die betr. Region, in manchen Fällen auch der ganze Kopf, in Paraffin eingebettet und in Stufen geschnitten und die verschiedensten Färbungen ausgeführt. Routinemäßig wurden Schnitte zunächst mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt, in jedem Falle mit auffälligen Veränderungen je nach Bedarf Kresylviolett färbung, Heidenhain's Eisenhämatoxylin-Eosin-Färbung, die Elastica van Gieson-Färbung, eine Versilberung nach Gomori oder Tibor Pap mit Kernecht-Gegenrotfärbung und die Toluidinfärbung nach Nissl durchgeführt.

Klassifikation des Materials

Wir fanden bei der histologischen Untersuchung 1. echte autonom wachsende Neoplasmen, 2. eine beginnende neoplastische Tendenz des Gewebes, 3. eine Fremdkörperriesenzellreaktion bzw. bindegewebige Abkapselung, 4. eine starke Hyperämie des Gehirns in der Nähe des Pellet mit Gefäßproliferation, 5. eine auffallende Ependymproliferation und Wucherung des Plexus der Nachbarschaft, 6. eine völlig reaktionslose Umgebung des Pellet.

A. Fragliche neoplastische Umwandlung

Als Beispiele der Gruppe 2 seien zunächst die folgenden Fälle wiedergegeben: Maus mit Tod nach 265 Tagen: Es zeigt sich, von einer bindegewebigen Kapsel teilweise umgeben, eine Masse, die bei kleiner Vergrößerung das Bild einer in Nekrobiose befindlichen Gewebszone macht. Hier finden sich bei höherer Vergrößerung ungeschädigte runde »lymphoide« Zellen, die abwechseln mit anderen Gebieten völliger Karyorhexis; dazwischen sieht man »Übergangszellen«, bei denen noch die Merkmale beider Typen vorhanden sind. Auffallend ist der ausgesprochen verdrängende Charakter

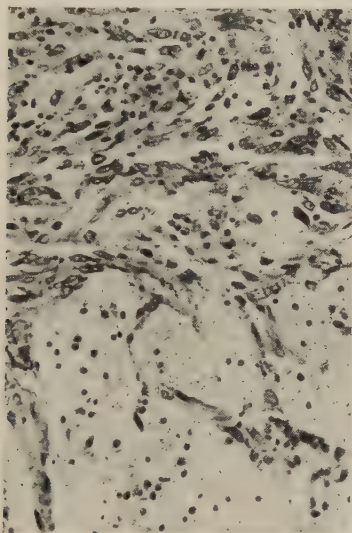


Abb. 9

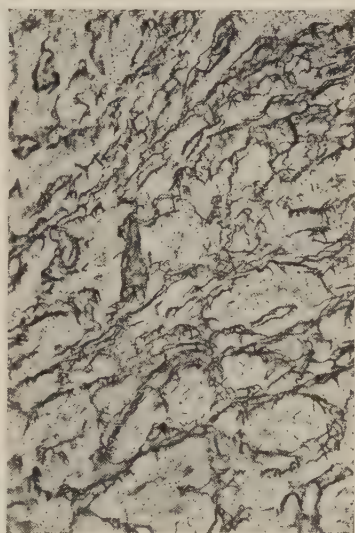


Abb. 10

Abb. 9 u. 10 Der Tumor ist spindelzellig, bildet reichlich Silberfasern und dringt entlang den Kapillaren ins Hirn vor. Er gleicht dem menschlichen Fibrosarkom der Dura mater

Abb. 9. Kresylviolett-Färbung. Vergr. 187 ×

Abb. 10. Tibor-Pap-Färbung. Vergr. 187 ×

dieser Zellmassen, die man nur als eine »zellreiche Reaktionszone« ansprechen kann, bestenfalls mit einer fraglichen beginnenden Umwandlung zu Geschwulstzellen.

Ähnlich findet sich bei einer zweiten Maus mit Tod nach 254 Tagen ein Granulationsgewebe, vorwiegend aus länglichen Zellen, von dem aus Infiltrate in die Meningen reichen. Gelegentlich findet man hier neben lymphoiden Zellen sichere Plasmazellen. Daneben ist die Polymorphie stärker als im erstgenannten Falle.

B. Echte Gewächse

Einteilung und Klassifikation der entstandenen echten Hirngeschwülste basieren auf dem Schema von Zülch. Es werden die 4 Hauptgruppen der

neuroepithelialen, der mesodermalen, der epithelialen Gewächse und der Mißbildungstumoren unterschieden.

1. Neuroepitheliale Gewächse: Gliome

a) Tod einer Maus nach 213 Tagen. In der Nähe des Pellet findet man erhebliche nekrotische und mit Blutungen durchsetzte Gewebsteile. Ringförmig nach außen zu liegen Zellstränge ohne besondere Architektur mit unterschiedlicher Zellgröße. Es finden sich kleinere helle und runde Zellen mit chromatinreichen Kernen sowie große Zellen. Sie sind entweder rund, polygonal oder hantelförmig und etwa 2—4fach so groß wie die erstbeschriebenen Zellen. Einige kleinere Gefäße liegen im Tumorgewebe, die Gefäße des angrenzenden Hirngewebes sind erweitert und zeigen eine Wandproliferation.

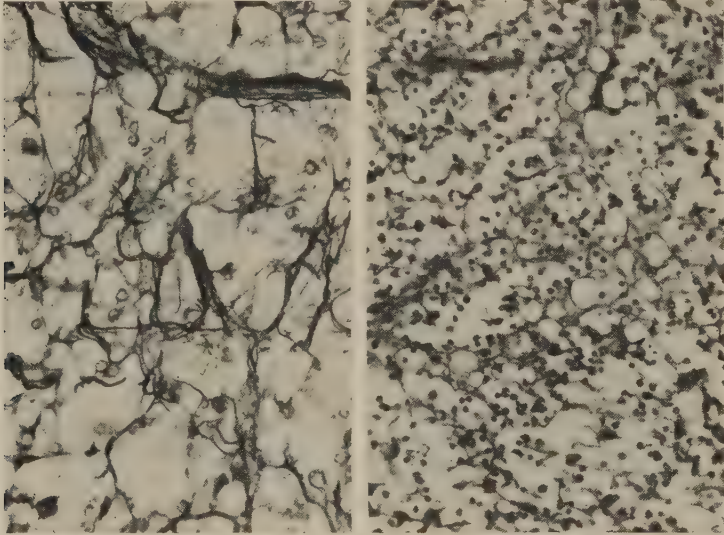


Abb. 11

Abb. 12

Abb. 11 u. 12. Die Geschwulst besteht aus kleinen runden oder sternförmigen Zellen, deren Kerne einem feinsten Protoplasmanetz anliegen. Bei Gitterfaserschärfung liegen die Zellen oft »wie die Weidenkätzchen« dem Stroma an. Der Tumor kann am ehesten als ein Retothelsarkom diagnostiziert werden

Abb. 11. Gomori-Versilberung. Vergr. 134 ×

Abb. 12. HE-Färbung. Vergr. 187 ×

Diagnose: Es handelt sich um einen wahrscheinlich gliösen, polymorphen Tumor, der bei Fehlen von interzellulären Silberfasern am ehesten als polymorphes multiformes Glioblastom anzusprechen ist. Eine gewisse Ähnlichkeit besteht zum polymorphen Oligodendrogliom (vgl. Abb. 199a bei Zülch (1956) (30) in Olivecrona-Tönnis, Hdb. der Neurochirurgie, III. Bd.).

b) Maus, die nach 357 Tagen gestorben ist. Makroskopisch besteht kein Tumordacht, sondern es findet sich nur »nekrotisches Material« um das Pellet. Histologisch dagegen ist das Pelletloch von einer breiten Nekrosezone umgeben, an die sich Gewebe zweier Zelltypen anschließt. Zur Basis des Hirns hin findet man einen kleinzelligen Tumor; lymphoide Zellen liegen hier ohne sichtbare Architektur und nur untermischt mit ganz wenigen größeren Zellen mit helleren Kernen. Zur Hirnrinde aber nehmen die Zellen einen anderen Charakter an, neben den beschriebenen findet man auch kleinere und große Riesenzellen, die oft die 30—40fache Größe der Genannten haben und Vakuoleneinschlüsse und starke Granulierung zeigen. In der Mitte eines solchen

Monstrezellverbandes liegen meist obliterierte Kapillaren. Man findet auch hier Mitosen abenteuerlicher Gestalt. Im Silberbild sind einige argyrophile Fasern nur im Gebiet dieser Monstrezellen zu erkennen. Diagnose: Die Klassifikation des Tumors macht Schwierigkeiten. Das Gemisch von mittelgroßen und monströsen Zellen läßt am ehesten an ein malignes Glioblastom denken, zumal auch zwischen den kleinen Zellen eine Silberfaserung fehlt (vgl. Abb. 1. 2 u. 15a).

c) Der Fall einer Maus mit Tod nach 318 Tagen zeigt ein ähnliches, aber weniger ausgeprägtes Bild (vgl. Abb. 3 u. 15c).

Paragliome

a) Maus mit Tod nach 125 Tagen. Der größte Teil der linken Hemisphäre ist von einem Blastomgewebe durchwachsen, dessen Zellen gleichmäßig rund sind. Nur wenige Zellen sind plasmareicher und haben größere, helle, gelegentlich mehrkernige Struktur. Der Ventrikel ist hochgradig erweitert und mit Eiweißmasse ausgefüllt. Da das Tumorgewebe in sehr enger Beziehung zum Ventrikel steht und der Tumor aus vorwiegend

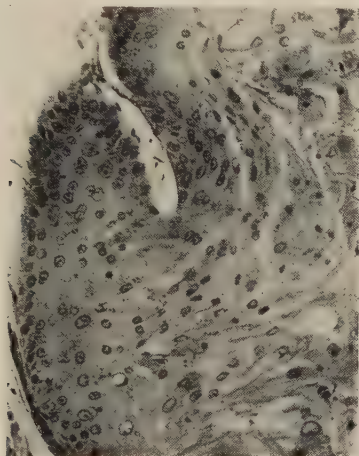


Abb. 13



Abb. 14

Abb. 13. Gegen das Hirn vordringende Epithelwarze mit unruhigem Bau. Diese Fälle bilden das Vorstadium zu dem mehrfach beobachteten Plattenepithel-Karzinom HE-Färbung. Vergr. 187×

Abb. 14. Querschnitt durch das Hirn einer Maus mit kappenförmig — vorwiegend links — aufsitzendem Tumor Maus XII/324 (vgl. Abb. 7/8)

kleinen runden Zellen besteht, wird er am ehesten als ein »ependymomartiges Gewächs« angesehen. Das gilt besonders auch für den Fall

b) einer Maus mit Tod nach 284 Tagen. Hier geht der Tumor sicher vom li. Ventrikel aus und ist in den re. Ventrikel hineingewuchert. Die Tumorzellen infiltrieren an einigen Stellen das Ependym und wachsen durch dieses in das Hirngewebe ein. Der Tumor besteht meist aus isomorphen Zellen, die zytoplasmaarm sind, aber chromatinreiche Kerne haben. Der Plexus wurde von der Ventrikelwand abgeschoben und verlagert. Im Silberbild finden sich keine argyrophilen Fasern. Diagnose: Lokalisation, Zelltyp und Fehlen von Silberfasern sprechen dafür, daß es sich um einen »ependymomartigen Tumor« mit infiltrativem Wachstum handelt.

Dies Bild zeigt auch der Fall

c) einer Maus mit Tod nach 294 Tagen. Hier findet man eine manschettenartige Lagerung der Zellen um einzelne Gefäße. Der Tumor ist ebenfalls frei von silberimprä-

nierbaren Fasern und muß als »ependymomartig« bezeichnet werden. Allerdings fehlen die typischen kernfreien Manschetten um die Gefäße. Immerhin gleicht der Tumor dem von Zülch (in Abb. 233/1956 (30) in Olivecrona-Tönnis) als Variante veröffentlichten Fall eines Ependymoms des Foramen Monroi (vgl. Abb. 4 u. 15b).

2. Mesodermale Gewächse

a) Die Maus zeigte am 173. Tag einen walnußgroßen Tumor oberhalb des Kopfes, der in den letzten Wochen extrakraniell herausgewuchert war. Die Haut über dem Tumor war gut verschieblich, der Tumor erschien auf dem Schnitt speckig, glänzend, grau und mit einigen Nekrosen durchsetzt. Vom Pelletloch aus gingen dichte Stränge von langgestreckten spindeligen Zellen, die sowohl durch die Perforationsstelle nach außen extrakraniell wie auch entlang den Meningen und den Sulci und entlang den Gefäßen intrakraniell wuchsen. Das Hirngewebe wurde sonst nirgends infiltriert. Die Zellen bildeten Ströme und Strudeln, Mitosen waren nicht zu sehen. Bei der Silberimpragnation fand sich ein dichtes Fasernetz. Diagnose: Es wurde angenommen, daß der Tumor am ehesten von der Leptomeninge seinen Ausgang genommen hatte. Er wäre also in Beziehung zu setzen zu den fibromatösen Meningeomen oder zu den Fibrosarkomen. Das Wachstum entlang den Gefäßen und eine gewisse Polymorphie sprachen am ehesten für die letzte Diagnose (vgl. Abb. 5, 6, 15d u. 16).

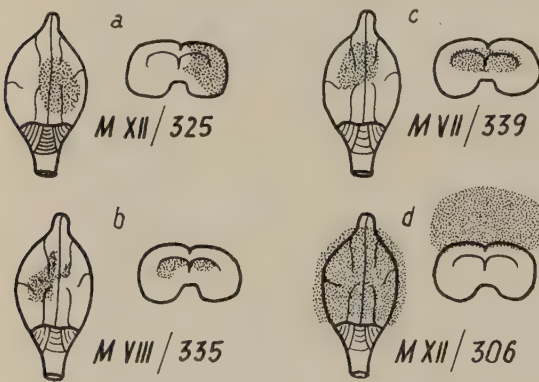


Abb. 15. Schematische Darstellung der Ausbreitung der experimentell entstandenen Tumoren in einzelnen histologisch gezeigten Fällen (vgl. die Benennung der Mäuse)

b) Bei einer Maus mit Tod nach 295 Tagen war ebenfalls auf dem Kopf ein sehr großer Tumor entstanden. Das Pellet lag hier subdural. Es war umgeben von einem Gewebe dichtgelagerter runder und spindelförmiger Zellen, die aber auch mit sehr dunkelkernigen kleineren Zellen untermischt waren. Der Tumor wuchs durch die Schädelkapsel und infiltrierte die Markräume; das Gewebsbild wurde extrakraniell besonders atypisch. Es waren weder besondere Architekturen noch auch nur Aufgliederung in Ströme und Züge zu erkennen; nur gegen den Rand zu entstanden ringförmige Strukturen. Zahlreiche sehr primitive, weit geöffnete Gefäße durchsetzten den Tumor. Es waren zahlreiche Makro- und Mikronekrosen vorhanden. Diagnose: Der Tumor war zwar ähnlich dem eben beschriebenen, doch war die angioblastische Tendenz in diesem Falle deutlich. Wir möchten ihn am ehesten als ein angiomatöses Meningeom auffassen (große Ähnlichkeit mit Abb. 316b bei Zülch, 1956, im Handbuch, III. Bd. (30)). — Als Nebenbefund fand sich eine Lymphoretikulose der Milz. Es läßt sich zur Zeit nicht klären, ob es sich um einen Zufallsbefund handelt oder ob diese durch eine Fernwirkung des Methylcholanthrens ausgelöst wurde (vgl. Abb. 7, 8, 14 u. 17).

Sichere Fibrosarkome: a) Maus mit Tod nach 322 Tagen. Hier war von der li. Hemisphäre ein zellreiches, sehr dichtes Geschwulstgewebe ausgegangen, welches bis herab zum Ammonshorn infiltriert hatte. Die Zellen lagen oft in Strömen, aber auch in Spindeln und Wirbeln. Sie waren recht isomorph. Neben diesen langen spindeligen Zellen fand man auch kleinere dunkle lymphoide Formen. Der Tumor wuchs ausgesprochen entlang den Kapillaren bzw. in den weichen Häuten. Im Silberbild war ein sehr feines Netz von Retikulinfasern vorhanden. Dieser Tumor glich sehr deutlich den Fibrosarkomen beim Menschen (s. Zülch, Abb. 356b) und kann daher einwandfrei als ein Fibrosarkom bezeichnet werden.

b) Ähnlich war der Tumor im Falle einer Maus mit Tod nach 297 Tagen. Hier war zwar an einzelnen Stellen der Tumor etwas stärker azinös strukturiert, was auch im Silberbild zum Ausdruck kam. Immerhin ließ die starke interzelluläre Silberfaserung doch ein Gliom (spindelzelliges Glioblastom) ausschließen (vgl. Abb. 9 u. 10).

c) Bei einer Maus mit Tod nach 173 Tagen war das gesamte Hirn in Tumormasse umgewandelt. Hier handelte es sich um einen undifferenzierten spindelzelligen Tumor mit typischer Architektur in langen Zügen und starker Mitverflechtung der Zellen, gelegentlich auch mit Wirbelbildung. Es fanden sich zahlreiche Mitosen, im Silber-

Abb. 16. Maus XII/306



Abb. 16 u. 17.
Bild von 2 Mäusen mit extra-
kranial durch das Pellet-Loch
gewachsenen Tumoren

Abb. 17. Maus XII/324

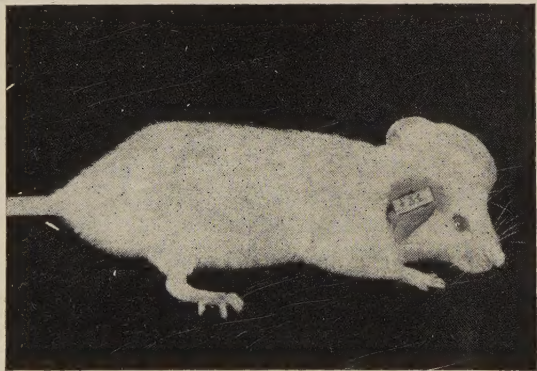


bild ein dichtes Netz von Silberfasern. Diesen Tumor kann man ebenfalls als ein unreifes Fibrosarkom ansprechen.

Ähnliche fibrosarkomatöse Tumoren fanden sich bei 6 weiteren Tieren, die meist recht früh nach Einsetzen des Pellet verstarben, nämlich nach 65, 99, 102, 116, 150 und 256 Tagen.

Retotheliale Tumoren: Bei einem Tier mit Tod nach 500 Tagen war ein Tumor von der li. Hemisphäre ausgegangen und hatte einen kleinen Teil des Hirns infiltriert, lag aber auch als ein stellenweise sehr dicker Belag auf den Meningen bis weit über das Kleinhirn hin. Schließlich war er durch die Knochenkapsel in die Markräume derselben eingewuchert und extrakraniell weitergewachsen, wobei die Muskelansätze infiltriert wurden. Die Hauptmasse des Tumors war nekrotisch. Der Tumor bestand histologisch aus kleinen runden bis sternförmigen Zellen, deren Kerne homogen gefärbt waren. Im Silberbild zeigte sich ein dichtes Netz von argyrophilen Fasern, die zum Teil strauchförmig angeordnet waren und allerfeinste Verzweigungen hatten. Hier hingen die Zellen als kleine Bällchen wie »Weidenkätzchen« an den Zweigen.

Diagnose: Die mesodermale Herkunft war durch die Struktur des Stromas und die Wachstumseigenart gesichert. Die feinere Form der Zellen, das Verhalten zu den Fasern ließ an das Retothelsarkom denken. Ein Oligodendrogliom, für das Architektur und Zelltyp auf den ersten Blick am ehesten zu sprechen schienen, ließ sich durch das Silberbild ausschließen (vgl. Abb. 11 u. 12).

3. Epitheliale Gewächse

a) Tod einer Maus nach 28 Tagen. Makroskopisch erkannte man eine abgekapselte Nekrose um das Pellet, mikroskopisch war diese Nekrosehöhle außen mit einer epithelialen Membran, bestehend aus den drei typischen Epidermisschichten, ausgekleidet. Von der innersten Zellschicht waren überall Hornlamellen abgeschildert. Auch sah man einige Hornperlen bzw. Epithelwarzen.

b) Bei einer Maus mit Tod nach 107 Tagen fand man ganz ähnlich eine epidermale Membran, die dem Hirngewebe direkt auflag. An einigen Stellen war diese jedoch bereits umgewandelt, man sah Infiltrate zapfenförmig ins anliegende Hirn vorwachsen, die durch ihre Kernunruhe und Zellatypie bereits von der epidermalen Membran verschieden waren. Diagnose: Es handelte sich offensichtlich um ein verhorntes Plattenepithelkarzinom, das von einer epidermalen Membran ausging. Diese beiden Befunde stehen hier für eine Reihe von ähnlichen Fällen (vgl. Abb. 13).

Im Schrifttum hat A. Weil (26) bereits den Befund bei einer Maus beschrieben, wo ebenfalls ein Karzinom von einer epidermalen Membran ausgegangen war. Das Bild gilt histologisch dem hier beschriebenen.

Weil diskutiert in seiner Arbeit bereits die Frage, ob diese Tumoren nicht von einem in die Tiefe verschleppten Hautepithel ausgegangen sind. Für unsere beiden eben genauer beschriebenen Fälle dürfte das die beste Erklärung sein, zumal wir später bei Vervollkommenung unserer Technik derartige Plattenepithelzysten bzw. -karzinome nicht mehr sahen, die im Anfang übrigens nicht so selten waren.

Ergebnisse unserer Arbeit

Durch das Einbringen von kleinen Methylcholanthrenstiften (Pellets) in das Hirn von 279 Versuchstieren (267 Mäuse und 12 Ratten) wurden in einer großen Zahl von Fällen Neoplasmen des Hirns erzeugt. Die neuroepithelialen Tumoren entstanden nach einer Durchschnittszeit von 297 Tagen (frühestens 125 Tage, spätestens 357 Tage). Die Durchschnittszeit der mesodermalen Tumoren, besonders der Fibrosarkome, war verschieden, je nachdem, ob das Pellet in die Tiefe des Hirns gebracht wurde oder an der Oberfläche des Hirns in den weichen Häuten lag. Im ersten Falle entstand der Tumor spät (Durchschnittszeit: 303 Tage, frühestens nach 173, spätestens nach 322 Tagen), während er bei den sehr oberflächlich gelegenen bereits nach 106 Tagen Durchschnittszeit (frühestens nach 65 Tagen, spätestens nach 150 Tagen) auftrat. Nehmen wir als Zeitpunkt des frühesten Auftretens eines Tumors 65 Tage und schalten dann alle Tiere aus, die postoperativ oder interkurrent bis zu diesem Zeitpunkt starben, so bleiben wegen der großen technischen Schwierigkeiten bei den Anfangsserien nur 86 Tiere, die in das »tumorfähige Alter« kamen. Davon erzielten wir bei 24 Tieren (28 %) Geschwülste nach Einbringen von Methylcholanthren.

Es ist auffallend, daß sich — bis auf einige wahrscheinlich benigne Paragione, die den Ependymomen nahestanden — fast ausschließlich maligne Geschwülste entwickelten und daß bestimmte Arten, z. B. die vom Kleinhirngewebe ausgehenden Tumoren — Medulloblastome — bisher nicht erzeugt werden konnten. Wir hatten lange Zeit Schwierigkeiten mit dem Einbringen des Pellets in die hintere Schädelgrube durch den auftretenden Hirndruck,

viele Tiere starben daher schon vor Erreichen des tumorfähigen Alters. Wir haben die vielen Tumorvarianten, die Zimmermann und ihre Mitarb. erzeugen konnten, also nicht gesehen. Die Serien müssen also fortgesetzt werden, ehe wir endgültig zu den Erfahrungen von Zimmermann und Mitarbeitern Stellung nehmen. Wir haben jedenfalls den Eindruck von Zülch bestätigen können, daß die neuropathologische Klassifikation der entstehenden Tumoren sehr große Schwierigkeiten macht und daß es selten einmal Hirngeschwülste gibt, die den typischen Formen des menschlichen Hirns gleichen, insbesondere den vielen Varianten der Gliome. Es hat sich hierbei insbesondere wieder gezeigt, daß man das Gesamtgewebe des Tumors beurteilen muß und nicht nur auf Grund örtlicher umschriebener Architekturen klassifizieren darf. Auch wir sahen kleinste Partien, die wir mit den Gliomvarianten hätten vergleichen können. Nahm man aber das gesamte Gewebe des Tumors, so war die Klassifikation meist sehr erschwert.

Die relativ geringe »Angehrate« für Tumoren erklärt sich vielleicht daraus, daß bei unseren Mäusestämmen eine spontane Krebssterblichkeit bzw. Krebsempfänglichkeit nicht bestand. In den Fällen, in denen ein Tumor nicht erzeugt wurde, fiel jedoch die Hyperämie in der Umgebung des Pellets selbst nach mehreren hundert Tagen ebenso auf, wie die Gefäßproliferationen in der Nachbarschaft. Auch fanden wir häufig Proliferationen am benachbarten Ependym, konnten aber nicht entscheiden, ob die Proliferation eine Wirkung des Methylcholanthrens war oder ob es sich auch zu diesem späten Zeitpunkt noch um eine allgemeine Reaktion auf den Operationsreiz handelte.

Bei einer Maus fand sich neben einem meningealen Tumor eine Lymphoretikulose der Milz. Bei einer Ratte — die aber wiederum keinen Hirntumor entwickelte — entstand ein Mamma-Karzinom mit Metastasen in Darmbein- und Achsellymphknoten. Ob es sich bei diesen beiden Tumoren um reine Zufallsbefunde handelte oder ob es zu einer Fernwirkung des Methylcholanthrens kam, ließ sich nicht entscheiden. Die in den ersten Serien häufiger entstandenen Epidermoid-ähnlichen Tumoren bzw. Plattenepithelkarzinome ließen sich wahrscheinlich durch eine technische Unsauberkeit erklären: die Verschleppung von Epithelzellen in die Tiefe bei der Operation.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Lage des Pellets doch einen gewissen Einfluß auf die Entstehung der Art des Tumors hat, wenn wir auch die feinen Varianten Zimmermanns noch nicht kopieren konnten. Wenn mesodermale Substanzen unter den Einfluß des Pellets geraten, so entstehen natürlich meningeomartige oder fibrosarkomartige, wenn neuroepitheliale Zellen in seine Einflußzone kommen, so entstehen glioblastomartige oder ependymomartige Tumoren. Wir können also zunächst nur in den Grundzügen bestätigen, was Zimmermann und Arnold (28) in diesem Zusammenhang gesagt haben: »Within certain limits, the site of pellet implantation was a determinant of the type of intracranial neoplasm which developed«. Das Muttergewebe ist also ausschlaggebend für den Typus des entstehenden Tumors, jedoch konnten wir die große Variationsbreite der Typen bisher nicht erzeugen, die die Verff. vor uns anscheinend zu beobachten in der Lage waren.

Lebenslauf

Am 25. VIII. 1929 wurde ich als 4. Kind des damaligen Studienrates Dr. Wilhelm Schiefer und seiner Ehefrau Therese geb. Meyer in Köln geboren.

Von 1936 bis 1940 besuchte ich in Kleve/Ndrh. — wo mein Vater 1935 als Oberstudiendirektor die Leitung des Gymnasiums übernahm — die Volksschule, von 1940 bis 1944 die dortige Oberschule für Jungen, von 1945 an das humanistische Gymnasium in Köln-Nippes, wo ich im Jahre 1949 die Reifeprüfung ablegte. Danach begann ich in Bonn mit dem Studium der kath. Theologie. Nach bestandenem Philosophikum im Winter 1951 studierte ich noch zwei Semester Theologie in München, im Sommer 1952 begann ich dann mit dem Studium der Tiermedizin.

Während meines Studiums in München, das ich am 4. XII. 1956 mit der tierärztlichen Prüfung abschloß, wurde ich in die Studienstiftung des Deutschen Volkes aufgenommen.

Vom Dezember 1956 bis April 1957 war ich als Veterinärpraktikant bei Herrn Dr. Bolle, prakt. Tierarzt, in Appelhülsen/Westfalen, tätig, den Rest der Praktikantenzeit leistete ich am Institut für Tierpathologie ab.

Am 29. VI. 1957 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt.